

# POUŽITÍ BIOCIDŮ JAKO PREVENCE LEGIONEL V TEPLÉ VODĚ

## BIOCIDES USED FOR LEGIONELLA PREVENTION IN HOT WATER SYSTEMS

IVAN ČERNÝ

*Ekologická laboratoř PEAL s.r.o., Praha, Česká republika*

### SOUHRN

**Cíl:** Cílem práce je ověřit účinek několika biocidů využívaných v ČR pro zabezpečení teplé vody proti výskytu legionel. Do pokusu byly zařazeny jednoznačně chemicky definované látky (chlornan sodný, oxid chloričitý, chloritany a chlorečnany) a pak směsné přípravky (DUOZON, SANOSIL).

**Metody:** Pro experimenty byl jako základní testovací materiál použit přírodní izolát *Legionella pneumophila*, sg 1, zachycený při běžném vyšetřování vzorků teplé vody. Sbírkové kmeny jsou pro tyto pokusy nevhodné, protože pasážemi na pevných půdách ztrácejí některé vlastnosti. Testovací kmen byl ve vodném roztoku (ve vodovodní vodě) a v příslušném ředění vystaven vybraným koncentracím biocidů po dobu 60 minut, aby bylo možno stanovit nejnižší účinné koncentrace, při kterých planktonní formy legionel hynou. Počet legionel ve vzorcích před a po expozici byl stanoven podle ČSN EN ISO 11731. Koncentrace biocidů byla měřena na počátku každého pokusu.

**Výsledky:** Podle výsledků pokusů jsou testované biocidy srovnány podle nejnižší účinné koncentrace, v pořadí: 1. oxid chloričitý (0,2 mg/l), 2. chlornan sodný a DUOZON (0,7 mg/l jako Cl), 3. SANOSIL (100 mg/l), 4. chloritan sodný (600 mg/l), 5. chlorečnan sodný (1000 mg/l).

**Závěr:** Testované biocidy prodávané na českém trhu prokázaly v laboratorním pokusu způsoblost ničit legionely. Pokusem byly stanoveny nejnižší koncentrace, které ještě poskytují účinnou prevenci legionel v teplé vodě.

**Klíčová slova:** biocid – účinky, *Legionella*, voda teplá – kvalita

### SUMMARY

**Objective:** The objective of the paper was to verify the effects of several biocides used in the Czech Republic for prevention of legionella in hot water systems. Selected biocides were tested (sodium hypochlorite, chlorine dioxide, chlorites and chlorates) as well as compounds (DUOZON, SANOSIL).

**Method:** A natural strain of *Legionella pneumophila*, sg 1, isolated during regular testing of warm water samples was used for testing. Because control strains lose some of their properties in storage they are inappropriate for this type of testing. The testing strain was exposed to varying concentrations of biocides in tap water for a 60 minute period to determine the lowest possible concentration at which legionella plankton forms were destroyed. Legionella counts prior to and after exposure were determined according to CSN EN ISO 11731. Biocide concentrations were measured at the start of each test.

**Results:** Tested biocides were compared according to their lowest effective concentrations: 1) chlorine dioxide (0.2 mg/l), 2) sodium hypochlorite and DUOZON (0.7 mg/l as Cl), 3) SANOSIL (100 mg/l), 4) trisodium phosphate (600 mg/l) and, 5) sodium chlorate (1,000 mg/l).

**Conclusion:** The tested biocides commercially available in CR were at constant dosing adequately effective as prevention against legionella in warm water.

**Key words:** biocide – activity, *Legionella*, hot water – quality

<https://doi.org/10.21101/hygiena.a1744>

### Úvod

Vliv biocidů na legionely byl od 70 let minulého století předmětem mnoha prací. Kuchta (1) zjistil, že chlor působí již v koncentracích řádu desetin mg/l, později (2) pak toto zjištění korigoval směrem nahoru, s ohledem na legionely v amébách. Problematickou legionel a boje proti nim se zabývala řada prací (3–8). Velmi účinným biocidem je chlordioxid, o němž vyšla obsáhlá monografie (9). Výhodou chlordi-

oxidu a dalších oxidačních biocidů je jejich penetrační účinek vůči biofilmům. Nejběžnějším biocidem, využitelným i pro likvidaci legionel, je chlor. WHO (4) udává 2 mg/l chloru jako postačující pro inaktivaci volných legionel. Kramer ve sdělení z roku 2017 (7) doporučuje pro praní filtrů kolonizovaných legionelami koncentraci chloru 50 mg/l a expozici 12–24 h. DIN 19643-2 (10) doporučuje pro sanaci filtrů chlor v koncentraci 50 mg/l a expozici 24 h, nebo oxid chloričitý v poloviční koncentraci.

Tepelná dezinfekce legionel (65–80 °C) není z bezpečnostních i praktických důvodů vhodná ve velkých objektech, například v hotelech nebo nemocnicích. V těchto objektech většinou nelze zajistit zvýšenou teplotu ve všech částech distribuční sítě a dostatek teplé vody na propláchnutí všech výtoků. Dnes se doporučuje už jen u malých objektů s jednoduchými rozvody, jako jsou například rodinné domky. Legionely se navíc nejen dokáží adaptovat vyšším teplotám, ale snadno přežívají i díky biofilmům, ve kterých jsou skryty. Pro inaktivaci legionel se používá také chloramin (zejména v Itálii), Ag - Cu ionizace. Postupy využívající elektrolýzy již nelze ve většině států (s výjimkou USA) používat, protože to současné předpisy neumožňují. Přípravek SANOSIL, který se v ČR často využívá, je směsný preparát obsahující peroxid vodíku a koloidní stříbro.

U některých biocidních přípravků není složení uváděno přesně a správně. Týká se to především DUOZONU (11), který se v ČR používá poměrně často. Další podobné biocidy jsou Legiocid a Hydroxan. U těch je jako účinná složka uváděn tetrachlorodekaoxygen (TCDO), sumární vzorec  $\text{Cl}_4\text{H}_2\text{O}_{11}$ , registrovaný pod CAS 92047-76-2, s využitím především v lékařství k hojení ran. Legiocid a Hydroxan se vyrábí v Rakousku, v ČR tyto přípravky nejsou dostupné, takže do našeho pokusu nebyly zařazeny.

Jednorázové použití biocidů má krátkodobý efekt, po několika týdnech přerušení opět dochází ke kolonizaci teplovodních systémů. Trvalý efekt zajišťuje pouze nepřetržité dávkování biocidů. Často se zmiňuje agresivita biocidů vůči kovovým a plastovým rozvodům vody (12). Vůči účinku biocidů je nejodolnější polyvinylchlorid (PVC) a polyetylen (13). Kvantitativní údaje o životnosti plastových rozvodů uvádí Dwyer (13). Životnost potrubí z polyethylenu (PEX-c) vystavenému koncentraci 0,5 mg/l  $\text{ClO}_2$  je 66 let, u polypropylenu činí životnost 23 let. V praxi se používá koncentrace  $\text{ClO}_2$  přibližně poloviční a tomu odpovídá životnost PEX-c 95 let, respektive 33 let u PPR (polypropylen).

## Materiál a metody

Jako testovací kmen legionel byla použita Legionella pneumophila sg 1 zachycená při běžném testování teplé vody. Z vykultivovaného izolátu bylo připraveno inokulum – vodná suspence (k ředění byla použita běžná vodovodní voda) vhodné denzity v řádu  $10^4 - 5 \times 10^4$  KTJ/ml a ta pak byla smísená s roztoky testovaných biocidů v odstupňovaných koncentracích. V části inokulovaného vzorku byla stanovena skutečná počáteční koncentrace testovaného biocidu, druhá část byla po 60 mi-

nutách expozice očkovaná přímým výsevem na plotnu s živnou půdou (obvykle 0,5–1 ml na plotnu o průměru 90 mm). K inokulaci 50 ml roztoku biocidu bylo použito takové množství inokula (0,2–1,0 ml), aby výsledný počet kolonií na kontrolní plotně s nulovou koncentrací biocidu nepřesáhl 200. Stanovení legionel bylo prováděno podle standardního operačního postupu (14) odvozeného z ČSN EN ISO 11731 (15). Primokultivace probíhala 7 dnů na půdě GVCP, následovalo potvrzení na půdách BCYE cyst (+) a BCYE cyst (–) a další serologická konfirmace v séru L. pneumophila sg 1 Oxoid. Testovaly se biocidy v koncentracích nižších i vyšších, než je přepokládáný nástup dezinfekčního efektu.

## Seznam testovaných látek:

- chlornan sodný (dodala firma Brenntag)
- DUOZON 100 L (1 l balení, dodala firma BD Bargain)
- DUOZON 100 L (1 l balení, dodala firma Culligan)
- SANOSIL 25 AG (5 l balení, dodala firma SANOSIL)
- oxid chloričitý (vlastní příprava ze surovin Brenntag – chloritan sodný + peroxodvojsíran sodný)
- chloritan sodný (25% vodný roztok, Brenntag)
- chlorečnan sodný (Penta)

U přípravků na bázi chloru (zředěné roztoky chlornanu sodného a DUOZONU 100 L) byla koncentrace účinné složky (chloru) měřena fotometricky metodou DPD, postupem pro terénní měření s použitím chemikálií a fotometru Hach Lange (16), u oxidu chloričitého byl použit vlastní fotometrický postup (17). Koncentrace použitých ředění SANOSILU (18) nebyla ověřována, protože byl použit originální výrobek s deklarovanou koncentrací. Chlornany, chloritany a chlorečnany v koncentrátech (chlornan sodný a chloritan sodný od firmy Brenntag, DUOZON, chlorečnan sodný) byly stanoveny v laboratoři PEAL jodometricky. Kontrolní analýzy obsahu chlorečnanů, chloritanů a bromičnanů ve vzorcích přípravku DUOZON 100 L prováděné metodou HPLC (19) byly zadávány do laboratoře Pražských vodovodů a kanalizací (VEOLIA). Zároveň byly provedeny analýzy tohoto přípravku odměrnými metodami (9). Oba uvedené postupy shodně potvrdily, že DUOZON neobsahuje jako účinnou složku deklarovaný oxid chloričitý (udávána koncentrace  $\text{ClO}_2$  10–25 %), ale chlornan sodný přibližně 10 %.

U starších šarží DUOZONU a chlornanu se může finální degradační produkt (chlorečnan) vyskytovat v jednotkách % (starší přípravek DUOZON od firmy BD Bargain obsahoval 3,3 % chlorečnanu). Přípravky na bázi chlornanu sodného obsahují i chlorid sodný.

Tab. 1: Účinnost biocidů

Biocid	Nejnižší účinná koncentrace	Účinná složka*
Oxid chloričitý	0,2 mg/l	$\text{ClO}_2$
Chlor (chlornanový)	0,7 mg/l	Cl ( $\text{ClO}^-$ )
DUOZON (směsný)	7 ml/l (= 0,7 mg/l Cl)	Cl ( $\text{ClO}^-$ )
SANOSIL (směsný)	100 mg/l	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Ag}$
Chloritan sodný	600 mg/l	$\text{ClO}_2^-$
Chlorečnan sodný	1000 mg/l	$\text{ClO}_3^-$

\*účinná složka je nositelem biocidního účinku. Kromě účinné složky obsahují některé přípravky i balastní složky, např. chlorid sodný a chlorečnan sodný.

## Výsledky

Nejnižší účinné koncentrace (0,2 mg/l) dosahuje oxid chloričitý. Chlor (chlornan sodný, DUOZON) je účinný od 0,7 mg/l, účinek SANOSILU začíná na 100 mg/l, chloritany od 600 mg/l, chlorečnany od 1 000 mg/l (tab. 1). Výsledky jednotlivých pokusů jsou zaznamenány v tabulce 2.

## Diskuse

Práce byla zaměřena především na přípravky, jejichž základem je chlornan sodný, dále zkoumala účinky oxidu chloričitého a přípravků SANOSIL. Samostatně byly testovány také degradační produkty oxidu chloričitého – chloritany a chlorečnany, jež jsou často v nezanedbatelných koncentracích v testovaných biocidech obsaženy. Specifické vlastnosti přípravků se promítají i do způsobu dávkování. Nejsnazší je dávkování chlornanu sodného, DUOZONU a SANOSILU. Tyto biocidy je možné dávkovat ve formě velmi koncentrovaných roztoků, což je z hlediska techniky dávkování výhodné. Obtížnější je práce s oxidem chloričitým, který se do vody dávkuje buď z poměrně nákladných výrobníků, nebo jako jednorázově připravovaný vodný roztok (0,2–0,3 %), který se připravuje podle potřeby na místě použití a skladuje se v zásobnících objemu 50–200 l. Tyto technické nevýhody oxidu chloričitého vyvažuje jeho vynikající účinnost a penetrační schopnosti, díky kterým je schopen narušit biofilmy v potrubních rozvodech teplé vody. Většina zdravotnických zařízení proto používá oxid chloričitý.

Ve shodě s výsledky této práce jsou i dlouhodobé terénní zkušenosti s oxidem chloričitým, který se v běžné praxi dobře osvědčil.

Chlornan sodný je běžnou látkou ve vodárenství a v bazénové technice. Proti legionelám začíná působit při koncentraci kolem 0,7 mg/l (jako aktivní chlor), což je koncentrace v rozvodech pitné vody (teplé vody) neobvykle vysoká (oxid chloričitý působí při 0,2 mg/l). Chlornan sodný je také základem DUOZONU, resp. majoritní a jedinou významnou účinnou složkou tohoto přípravku, který má podle bezpečnostního listu obsahovat 10–25 % oxidu chloričitého. Kromě chlornanu sodného obsahuje DUOZON (stejně jako komerčně dodávaný chlornan) ještě chlorid sodný a také – podle stáří – jisté množství chlorečnanu sodného. Účinek DUOZONU je stejný jako účinek chlornanu sodného, což jsme prokázali i našimi pokusy.

SANOSIL je směsný přípravek obsahující peroxid vodíku a stříbro. Účinný je od 150 mg/l a jeho spotřeba je tedy podstatně vyšší než u předchozích dvou biocidů. Může také působit problémy (vysoké hodnoty) při měření chemické spotřeby kyslíku manganistanovou metodou.

Chloramonzace vody se v ČR používá jen zřídka, proto jsme chloramin do našich pokusů nezařadili. Mohla by to však být efektivní metoda při potírání legionel i díky uváděnému účinku na odstraňování biofilmů.

Tetrachlordekaoxygen (TCDO) je udáván jako účinná složka v přípravcích Hydroxan a Legiocid určených k potírání legionel. Ty se nám bohužel nepodařilo získat, a to ani přímo ve výrobním závodu firmy TCDO Productiongesellschaft GmbH v Salcburku. Z toho důvodu nebyl TCDO do našeho srovnání zařazen.

Tab. 2: Přehled pokusů (2018)

10.1.	ClO <sub>2</sub> , mg/l	0,0	0,20	0,70	0,4	0,6	1,0	
	KTJ*	1000	2	0				
10.1.	Chloritan (ClO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ), mg/l	0,0	0,5	24	600			
	KTJ	1000	1000	1000	62			
6.2.	ClO <sub>2</sub> , mg/l	0,0	0,06	0,12	0,18	0,24	1,0	
	KTJ, počet	130	112	50	3	0		
10.2.	DUOZON, ml/m <sup>3</sup> = Cl, mg/l	0	3	6	9	12		
		0	0,31	0,63	0,96	1,32		
	KTJ	180	176	70	0	0		
15.2.	DUOZON, ml/m <sup>3</sup> = Cl, mg/l	0	3	6	7,5	9		
		0	0,20	0,47	0,67	0,80		
	KTJ	150	140	135	8	5		
17.2.	NaClO = Cl, mg/l	0	0,27	0,64	0,98	1,36	1,72	
	KTJ	130	140	26	1	1	0	
21.2	SANOSIL, mg/l	0	2	4	6	10	25	50
	KTJ	150	130	150	160	140	135	120
21.2	SANOSIL, mg/l	0	100	200	300	400		
	KTJ	150	100	14	0	0		
5.9.	Chlorečnan (ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), mg/l	0	500	1000				
	KTJ	80	80	43				

\*KTJ – počet kolonií legionel na plotně 90 mm.

## LITERATURA

1. Kuchta JM, States SJ, McNamara AM, Wadowsky RM, Yee RB. Susceptibility of *Legionella pneumophila* to chlorine in tap water. *Appl Environ Microbiol.* 1983 Nov;46(5):1134-9.
2. Kuchta JM, Navrátil JS, Shepherd ME, Wadowsky RM, Dowling JN, States SJ, et al. Impact of chlorine and heat on the survival of *Hartmannella vermiformis* and subsequent growth of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1993 Dec;59(12):4096-100.
3. Dupuy M, Mazoua S, Berne F, Bodet C, Garrec N, Herbelin P, et al. Efficiency of water disinfectants against *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba*. *Water Res.* 2011 Jan;45(3):1087-94.
4. Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Surman-Lee S, editors. *Legionella and the prevention of legionellosis*. Geneva: WHO; 2007.
5. Šásek J. Poznatky o legionele, její závažnosti a možnostech eliminace [online]. Praha: EuroClean; 2012 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: <https://euroclean.cz/clanky/poznatky-o-legionelle-jeji-zavaznosti-a-moznostech-eliminace/>.
6. Šásek J, Baudišová D, Kožíšek F. Metodické doporučení Státního zdravotního ústavu - Oddělení hygieny vody ke kontrole jakosti teplé vody (zvláště s ohledem na riziko přítomnosti legionel) [online]. Praha: SZÚ; 2018 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/legionely-v-teple-vode>.
7. Kramer M. Aktuelle Erfahrungen zur Legionellen prophylaxe im Schwimmbeckenwasser. *Archiv des Badewesens.* 2017;(3):165-71.
8. Marchesi I, Marchegiano P, Bargellini A, Cencetti S, Frezza G, Miselli M, et al. Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. *J Hosp Infect.* 2011 Jan;77(1):47-51.
9. Gates DJ. *The chlorine dioxide handbook*. Denver (CO): American Water Works Association; 1998.
10. *Treatment Of Water Of Swimming Pools And Baths - Part 2: Combinations Of Process With Fixed Bed Filters And Precoat Filters*. Berlin: German Institute for Standardisation; 2012. DIN 19643-2.
11. DUOZON 100 L [online]. Brno: QZP; 2009 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: <http://www.duozon.cz/>.
12. Žabička Z. Vnitřní vodovody z polypropylenu a jejich havárie [online]. Praha: TZB info; 2011 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: <https://voda.tzb-info.cz/materialy-voda-kanalizace/8048-v-nitrni-vodovody-z-polypropylenu-a-jejich-havarie>.
13. Dwyer T. Module 87: Ensuring safe and robust hot water flow and return pipework. *CIBSE Journal* [Internet]. Nov 2015 [cited 2020 May 26]. Available from: <https://www.cibsejournal.com/cpd/modules/2015-12-safe/>.
14. SOP legionela - zkušební laboratoř č. 1533, osvědčení o akreditaci č. 61/2018 [online]. Praha: Český institut pro akreditaci; 2018 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: [https://www.cai.cz/OA/pdf/P612\\_2018\\_CS.pdf](https://www.cai.cz/OA/pdf/P612_2018_CS.pdf).
15. ČSN EN ISO 11731 (757881). *Kvalita vod - Stanovení bakterií rodu Legionella*. Praha: ÚNMZ; 2018.
16. *Návod k metodě 8021. Manuál k fotometru DR 2000*. Praha: Hach Lange; 2020.
17. Sborník V. Celostátní konference pracovníků zdravotních ústavů; 28. - 29. 5. 2007; Karlovy Vary. Karlovy Vary: Zdravotní ústav; 2007. CD ROM.
18. Bezpečnostní list: Sanosil Super 25Ag [online]. Praha: Sanosil CZ; 2009 [cit. 2020-05-26]. Dostupné: <http://www.eascr.cz/public/content-images/cz/product/bezpecnostni-list-sanosilsuper-25-ag.pdf>.
19. Stanovení rozpuštěných aniontů metodou kapalinové chromatografie iontů – stanovení bromičnanů, chlorečnanů a chloritanů v provozních chemikáliích. Praha: Pražské vodovody a kanalizace; SOP č. SAK-30 - část B.

*Došlo do redakce: 19. 1. 2020*

*Přijato k tisku: 13. 5. 2020*

*Ing. Ivan Černý  
Ekologická laboratoř PEAL s.r.o.  
U Vodojemu 914/15  
142 00 Praha 4  
Česká republika  
E-mail: [cerny@peallab.cz](mailto:cerny@peallab.cz)*